

СОДЕРЖАНИЕ ПОЛОВЫХ СТЕРОИДОВ И ИХ РЕЦЕПЦИЯ У ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫХ ЖИВОТНЫХ В УСЛОВИЯХ ХРОНИЧЕСКОГО РАДИАЦИОННОГО ВОЗДЕЙСТВИЯ

НАУМОВ А.Д.

Витебская ордена «Знак Почета» государственная академия ветеринарной медицины, г. Витебск, Республика Беларусь

Вестник ВГМУ. – 2020. – Том 19, №6. – С. 86-91.

THE CONTENT OF SEX STEROIDS AND THEIR RECEPTION IN EXPERIMENTAL ANIMALS UNDER THE CONDITIONS OF CHRONIC RADIATION IMPACT

NAVUMAU A.D.

Vitebsk State Awarded the «Badge of Honour» Order Veterinary Medicine Academy, Vitebsk, Republic of Belarus

Vestnik VGMU. 2020;19(6):86-91.

Резюме.

Проблема последствий длительного воздействия малых доз ионизирующего излучения до последнего времени остается малоизученной. Сложность оценок и прогнозирования заключается в том, что в условиях хронического облучения в организме активируются и играют активную роль клеточные репаративные системы, с которыми связаны возможности адаптации к меняющимся условиям внешней и внутренней среды.

Цель статьи – показать современное состояние проблемы длительного воздействия малых доз ионизирующих излучений, концентрируя внимание на содержании в крови и рецепции эстрадиола и прогестерона в органе-мишени (матка крыс) при внешнем облучении организма.

Материал и методы. Эксперименты выполнены на беспородных крысах-самках. Определение содержания эстрадиола и прогестерона в крови проводили с помощью стандартных диагностических наборов. При изучении рецепции стероидов использован радиолигандный метод.

Результаты. Изучены ранние и отдаленные эффекты длительного действия ионизирующего излучения на содержание эстрадиола и прогестерона в крови, их рецепцию в органе-мишени. Установлено, что в условиях эксперимента внешнее гамма-облучение не сопровождалось достоверным изменением содержания половых стероидов в крови. Отмечено изменение количества цитозольных рецепторов эстрадиола и прогестерона в матке облученных самок-крыс.

Заключение. Хроническое гамма-облучение оказывает дестабилизирующее влияние на систему стероидной регуляции, что может привести к нарушению физиологических функций организма.

Ключевые слова: эстрадиол, прогестерон, кровь, содержание стероидных гормонов, рецепторы гормонов, γ-облучение.

Abstract.

The problem of the possible consequences of long-term low doses exposure to ionizing radiation still remains little-studied. The complexity associated with assessment and prognostication in these studies are linked with the activity of cell reparation systems that help the organisms to adapt to the changing internal and external environmental conditions.

Objectives. To show the current state of the problem of small doses impact of ionizing radiation, the main focus being on the content in the blood and reception of estradiol and progesterone in a target organ (rat's uterus) exposed to external radiation.

Material and methods. The experiments were conducted on mongrel laboratory female rats. Standard diagnostic kits were used to measure the blood levels of estradiol and progesterone. The reception of the steroids was studied with the help of a radioligand method.

Results. The early and remote effects of long-time ionizing radiation on the content of estradiol and progesterone in the blood and their reception in target organs have been studied. It has been established that in the conditions of an experiment external gamma radiation didn't cause any reliable change in sex steroids of the blood. A change in the quantity of estradiol and progesterone cytosolic receptors has been found in the uterus of irradiated female rats.

Conclusions. Chronic gamma radiation exerts a destabilizing effect on the system of steroid regulation, which can lead to a disturbance of physiological functions in the body.

Key words: estradiol, progesterone, blood, steroid hormone content, hormone receptors, γ -irradiation.

Население и вся жизнь на планете зависят от качества среды обитания. На протяжении многих десятилетий человечеству известно, что от состояния природной среды зависят наши функциональные способности и резервы. Однако в современных условиях на эту информационно-функциональную систему человека, животных и растений наложилась сеть радиационных воздействий.

Наибольший интерес в этом плане связан с изучением длительного и непрерывного действия ионизирующих излучений на человека и животных. Эта проблема приобрела чрезвычайную актуальность в связи с тем, что в результате катастрофы на ЧАЭС и аварии на АЭС Фукусима-1 на загрязненных территориях значительно повысился радиационный фон и население оказалось в условиях постоянного внешнего и внутреннего облучения. Стало очевидным, что научные представления о закономерностях и механизмах биологического действия ионизирующих излучений в малых дозах (внешнего, внутреннего и их различных сочетаний), особенно в условиях пролонгированного облучения и при одновременном изменении среды обитания, весьма ограничены [1-4]. Существует достаточно доказательств воздействия больших доз ионизирующих излучений на здоровье человека и животных в условиях клиники и эксперимента, однако эти результаты не могут быть экстраполированы для отражения воздействия «в дикой природе» и при относительно малых дозах длительного радиационного воздействия. В этих условиях становится актуальным детальное изучение низкоинтенсивного облучения, поскольку имеются данные о его высоком трансформирующем влиянии на клетки, что увеличивает опасность канцерогенеза [1, 4-7].

Ряд исследователей указывает на то, что многие защитно-адаптационные реакции, особенно при воздействии на организм сильных и длительных повреждающих факторов, к которым

в частности относится ионизирующая радиация, реализуются прежде всего на уровне нейроэндокринной системы [2, 6-9].

В радиобиологии известно о высокой радиочувствительности репродуктивной системы. Считается, что нарушения, возникающие в репродуктивной системе при действии малых доз ионизирующей радиации, являются результатом как прямого, так и опосредованного через нейроэндокринную систему влияния облучения. Они чаще всего проходят на фоне выраженных эндокринных дисфункций, причем стойкие изменения в данной системе могут наблюдаться при низких дозах облучения [3, 6, 7].

В регуляции репродуктивной функции женского организма особую роль играют половые стероиды (эстрадиол и прогестерон), действие которых зависит от специфического взаимодействия с транспортными белками крови и внутриклеточными рецепторами клеток-мишеней, гормон-зависимых и -чувствительных органов [2, 10, 11].

В научной литературе практически отсутствуют данные о состоянии системы стероидной регуляции при длительном γ -облучении организма, а такие сведения могут быть полезными при выявлении изменений в репродуктивной функции, связанной с механизмом действия гормонов.

Материал и методы

Работа проводилась на базе Государственного научного учреждения «Институт радиобиологии» НАН Беларуси.

Эксперименты выполнены на беспородных лабораторных (6-месячных) крысах-самках с соблюдением всех правил проведения работ при использовании экспериментальных животных (стандартный уход и содержание в виварии, адаптация к условиям эксперимента, соблюдение асептики и антисептики при операциях) [12].

Исследовались ранние и отдаленные эффекты действия ионизирующего излучения при дозах 0,25 и 0,5 Гр на содержание эстрадиола и прогестерона в крови и их рецепцию в органе-мишени. Животных подвергали облучению на установке «Гаммарид 192/120» при мощности дозы облучения – 44 мГр/час с продолжительностью воздействия в случае дозы 0,25 Гр – 26 дней, при дозе 0,5 Гр – 52 дня. Взятие экспериментального материала осуществлялось на 3-, 10-е сутки после длительного гамма-облучения.

Определение содержания эстрадиола и прогестерона в крови проводили с помощью стандартных диагностических наборов ХОП ИБОХ НАН Республики Беларусь.

При изучении состояния системы рецепции стероидных гормонов в крови в качестве лигандов использовали [2, 4, 6, 7] – ^3H -эстрадиол и [1, 2, 6, 7] – ^3H -прогестерон производства «ГИПХ», Санкт-Петербург. Рецепцию эстрадиола и прогестерона в матке экспериментальных животных проводили с использованием метода насыщающего анализа. Гомогенаты матки центрифугировали при 37000 об/мин 1 час в центрифуге Beckman L8-50 M/E (ротор 50 Ti). Полученную надосадочную жидкость (цитозоль) инкубировали с возрастающими концентрациями ^3H -стероидов (0,1-5,0 нМ для эстрадиола и 0,4-20,0 нМ для прогестерона). Для подавления связывания ^3H -прогестерона с транспортными белками (транскортином) в пробы вносили кортизол в конечной концентрации $1,0 \times 10^{-9} \text{ M}^{-1}$.

Свободный и связанный белками стероид разделяли методом твердофазной адсорбции на декстран-покрытом угле (активированный уголь Norit A – 0,5%, декстран Т-70 – 0,05%). Длительность адсорбции составляла 3-5 минут. Далее уголь осаждали при 2000-3000 g в течение 3 минут. Определение радиоактивности проводили на β -сцинтилляционном счетчике Mark-III [12].

Результаты обрабатывали статистически с применением t критерия Стьюдента.

Результаты и обсуждение

Одним из свидетельств раннего нарушения в нейроэндокринной системе при общем внешнем облучении является изменение содержания гормонов в крови. Полученные нами данные (табл. 1) свидетельствуют о том, что хроническое облучение 6-мес. самок крыс в дозе 0,25 и 0,50 Гр (26 и 52 дня соответственно) на 3- и 10-е сутки после прекращения воздействия не приводило к статистически значимым изменениям содержания эстрадиола в крови.

В то же время, длительное гамма-облучение вызывает количественное увеличение числа цитозольных рецепторов эстрадиола в матке 6-мес. крыс в 3 раза на 3-и сутки при суммарных дозах облучения 0,25 (26 дней облучения) и 0,5 Гр (52 дня облучения) и в 2 раза – на 10-е сутки при дозе 0,25 Гр (табл. 2). Облучение в дозе 0,5 Гр на 10-е сутки не сопровождалось столь существенными, по сравнению с контролем, измене-

Таблица 1 – Содержание эстрадиола в сыворотке крови крыс-самок, подвергшихся в 6-мес. возрасте длительному воздействию гамма-облучения (нмоль/л, $M \pm m$)

Контроль	Доза облучения (Гр)	Сутки после облучения	
		3-и	10-е
0,41±0,08 n=8	0,25	0,35±0,07 n=6	0,39±0,15 n=6
	0,50	0,47±0,10 n=6	0,42±0,12 n=6

Примечание: * – различия достоверны по отношению к контролю ($P < 0,05$).

Таблица 2 – Содержание цитозольных рецепторов эстрадиола в матке крыс-самок, подвергшихся в 6-мес. возрасте длительному гамма-облучению в малых дозах (фмоль/мг белка, $M \pm m$)

Орган-мишень	Контроль	Доза облучения (Гр)	Сутки после облучения	
			3-и	10-е
Матка	302,90±15,40 n=8	0,25	1103,60±17,40*	682,70±14,20*
		0,50	849,50±19,20*	473,00±13,70*

Примечание: * – различия достоверны по отношению к контролю ($P < 0,05$).

ниями количества рецепторов в матке половозрелых крыс.

В ходе исследований содержания прогестерона в крови длительно облучавшихся самок крыс установлено отсутствие существенных изменений в концентрации гормона (табл. 3).

Работы по определению содержания рецепторов прогестерона показали (табл. 4.), что длительное гамма-облучение в малых дозах сопровождается значительным увеличением числа мест специфического связывания стероида в матке экспериментальных животных ($P < 0,05$).

Человек и животные в условиях радиационного загрязнения местности подвергаются не только хроническому внешнему облучению, но и внутреннему воздействию инкорпорированных радионуклидов, длительно поступающих в организм. В связи с вышесказанным важно было изучить возможность изменения содержания эстрадиола и прогестерона в сыворотке крови, а также рецепцию стероидов в матке крыс-самок в эксперименте с введением цезия-137 (^{137}Cs , в количестве 20 кБк/крыса в день в течение 16 дней). Поглощенная доза от внутреннего облучения после введения ^{137}Cs в дозе 320 кБк составила к концу 1-го месяца 0,15 Гр, 3-го – 0,26 Гр, 6-го – 0,26 Гр.

После проведения серии экспериментов были получены результаты, свидетельствующие о том, что длительное введение животным радиоактивного цезия не сопровождается в последующие сроки наблюдения изменением содержания эстрадиола и прогестерона в крови.

При анализе состояния цитозольной рецепции эстрадиола получены данные, указывающие на наличие существенных ее изменений у особей, подвергшихся воздействию инкорпорированного ^{137}Cs . Так, через 3 мес. после прекращения поступления радиоактивного вещества происходило статистически достоверное ($P < 0,05$) увеличение содержания рецепторов в матке экспериментальных животных ($372,5 \pm 17,5$ фмоль/мг белка), а в дальнейшем (через 6 месяцев) их количество было ниже ($176,5 \pm 14,4$ фмоль/мг белка) контрольных значений ($302,9 \pm 15,4$ фмоль/мг белка).

При поступлении ^{137}Cs в организм экспериментальных животных, как и в случае с рецепторами эстрадиола, отмечено увеличение специфического связывания стероида в матке на 3-й мес. ($0,95 \pm 0,11$ пмоль/мг белка) и уменьшение количества рецепторов прогестерона к 6-му мес. ($0,42 \pm 0,05$ пмоль/мг белка) после прекращения введения радионуклида ($P < 0,05$).

Таким образом, длительное воздействие ионизирующего излучения на организм в низких дозах может приводить к изменению состояния цитозольной рецепции половых стероидов в органах-мишенях.

Заключение

Ионизирующая радиация играет существенную роль во всех процессах, происходящих на земле, являясь «первичным» экологическим фактором. На нынешнем этапе развития человек

Таблица 3 – Содержание прогестерона в сыворотке крови крыс-самок, подвергшихся в 6-мес. возрасте длительному воздействию гамма-облучения в малых дозах (нмоль/л, $M \pm m$)

Контроль	Доза облучения (Гр)	Сутки после облучения	
		3-и	10-е
$2,31 \pm 0,28$ n=8	0,25	$2,55 \pm 0,34$ n=6	$2,42 \pm 0,52$ n=6
	0,50	$2,80 \pm 0,40$ n=6	$2,63 \pm 0,45$ n=6

Примечание: * – различия достоверны по отношению к контролю ($P < 0,05$).

Таблица 4 – Содержание цитозольных рецепторов прогестерона в матке крыс-самок, подвергшихся в 6-мес. возрасте длительному гамма-облучению в дозе 0,50 Гр (фмоль/мг белка, $M \pm m$)

Орган-мишень	Контроль	Доза облучения (Гр)	Сутки после облучения	
			3-и	10-е
Матка	$637,00 \pm 83,00$ n=8	0,25	$1025,80 \pm 88,00^*$	$898,00 \pm 81,00^*$
		0,50	$1234,50 \pm 96,00^*$	$973,00 \pm 103,00^*$

Примечание: * – различия достоверны по отношению к контролю ($P < 0,05$).

существенно трансформировал естественный радиационный фон, резко увеличивая его значение и изменяя параметры, следствием чего стало радиационное загрязнение среды обитания. С радиационным загрязнением связано неблагоприятное изменение среды обитания – насыщение ее энергией.

В ходе исследований установлено, что длительное воздействие внешнего гамма-облучения может сопровождаться изменениями на уровне цитозольной рецепции эстрадиола и прогестерона в матке экспериментальных животных с сохранением уровня гормона в крови. Это может привести к нарушению физиологических функций организма.

В условиях радиационного загрязнения местности человек и животные подвергаются не только внешнему облучению, но и внутреннему воздействию инкорпорированных радионуклидов. Введение в организм животных радиоактивного цезия-137 (в количестве 320 кБк) не сопровождалось изменением концентрации эстрадиола и прогестерона в крови через 3 и 6 месяцев после прекращения поступления. Поступление цезия-137 в организм приводило к достоверным изменениям рецепции эстрадиола и прогестерона в матке (увеличение числа рецепторов через 3 мес. и снижение через 6 мес.).

Выяснение молекулярных механизмов изменения эндокринной регуляции, в частности, в эстроген- и прогестин-рецепторных системах организма в ходе развития хронического радиационного воздействия при сравнительно малых дозах внешнего и внутреннего облучения является одной из наиболее актуальных в настоящее время проблем биологии и медицины. Это обусловлено несколькими причинами, основными из которых являются радионуклидное загрязнение территории Беларуси после Чернобыльской трагедии, изменения заболеваемости в этих районах, в особенности нейроэндокринного профиля, и необходимостью разработки новых методов прогноза, лечения и профилактики. Расшифровка механизмов, лежащих в основе стероид-рецепторной регуляции детородной функции, могла бы обеспечить прогресс в областях как фундаментальной

биохимии гормонов, так и прикладной медицинской эндокринологии и гинекологии.

Литература

1. Василенко, И. Я. Чернобыльская авария: медицинские последствия облучения в малых дозах / И. Я. Василенко, О. И. Василенко // Бюл. по атом. энергии. – 2003. – № 4. – С. 48–52.
2. Попов, Е. Г. Радиационно-индуцированные изменения характеристик андроген-специфичных белков и их вклад в нарушения гормональной регуляции / Е. Г. Попов, А. Д. Наумов // Современные проблемы биохимии : учеб. пособие для студентов и магистрантов высш. учеб. заведений по биол. специальностям / под ред. А. П. Солодкова, А. А. Чиркина. – Витебск : УО «ВГУ им. П. М. Машерова», 2010. – Гл. 10. – С. 231–254.
3. Попов, Е. Г. Андрогены, андроген-специфичные белки и ионизирующая радиация : монография / Е. Г. Попов. – Минск : Право и экономика, 2013. – 221 с.
4. Ярмоненко, С. П. Радиобиология человека и животных : учеб. для биол. специальностей вузов / С. П. Ярмоненко, А. А. Вайсон. – 3-е изд., перераб. и доп. – Москва : Высш. шк., 2004. – 549 с.
5. Бекман, И. Н. Радиоэкология и экологическая радиохимия : учебник для вузов / И. Н. Бекман. – 2-е изд., испр. и доп. – Москва : Юрайт, 2019. – 497 с.
6. Дедов, В. И. Радиационная эндокринология / В. И. Дедов, И. И. Дедов, В. Ф. Степаненко. – Москва : Медицина, 1993. – 208 с.
7. Основы радиобиологии и радиационной медицины : учеб. пособие / А. Н. Гребенюк [и др.]. – Санкт-Петербург : Фолиант, 2012. – 232 с.
8. Дедов, И. И. Эндокринология : учебник / И. И. Дедов, Г. А. Мельниченко, В. Ф. Фадеева. – Москва : ГЭОРТАР-Медиа, 2014. – 432 с.
9. Попов, Е. Г. Влияние радиоэкологических факторов на показатели андроген-зависимой регуляции организма у облученных родителей и их потомков / Е. Г. Попов, В. В. Селявко // Экол. вестн. – 2009. – № 3/4. – С. 59–68.
10. Панин, Л. Е. Транспортные формы стероидных гормонов в крови, их связь с развитием некоторых физиологических и патологических процессов / Л. Е. Панин // Бюл. СО РАМН. – 2012. – Т. 32, № 1. – С. 31–37.
11. Filchenkov, G. N. The low dose gamma ionising radiation impact upon cooperativity of androgen-specific proteins / G. N. Filchenkov, E. H. Popoff, A. D. Naumov // J. Environ. Radioact. – 2014 Jan. – Vol. 127. – P. 182–190.
12. Мельник, С. Н. Действие биметила на специфическое связывание эстрадиола кардиомиоцитами крыс в условиях ионизирующего излучения и стресса / С. Н. Мельник // Проблемы здоровья и экологии. – 2010. – № 2. – С. 103–106.

Поступила 29.09.2020 г.

Принята в печать 11.12.2020 г.

References

1. Vasilenko Ila, Vasilenko OI. Chernobyl Accident: Medical Consequences of Low Dose Irradiation. *Biul Atom Energii*. 2003;(4):48-52. (In Russ.)
2. Popov EG, Naumov AD. Radiation-induced changes in the characteristics of androgen-specific proteins and their contribution to hormonal dysregulation. Solodkov AP, Chirkin AA, red. V: *Sovremennye problemy biokhimii: ucheb posobie dlia studentov i magistrantov vyssh ucheb zavedenii po biol spetsial'nostiam*. Vitebsk, RB: UO «VGU im PM Masherova»; 2010. Gl 10. P. 231-54. (In Russ.)
3. Popov EG. Androgens, androgen-specific proteins, and ionizing radiation: monografiia. Minsk, RB: Pravo i ekonomika; 2013. 221 p. (In Russ.)
4. Iarmonenko SP, Vaison AA. Radiobiology of humans and animals: ucheb dlia biol spetsial'nostei vuzov. 3-e izd, pererab i dop. Moscow, RF: Vyssh shk; 2004. 549 p. (In Russ.)
5. Bekman IN. Radioecology and ecological radiochemistry: ucheb dlia vuzov. 2-e izd, ispr i dop. Moscow, RF: Iurait; 2019. 497 p. (In Russ.)
6. Dedov VI, Dedov II, Stepanenko VF. Radiation endocrinology. Moscow, RF: Meditsina; 1993. 208 p. (In Russ.)
7. Grebeniuk AN, Strelova Olu, Legeza VI, Stepanova EN. Fundamentals of Radiobiology and Radiation Medicine: ucheb posobie. Saint Petersburg, RF: Foliant; 2012. 232 p. (In Russ.)
8. Dedov II, Melnichenko GA, Fadeeva VF. Endocrinology: uchebnik. Moscow, RF: GEORTAR-Media; 2014. 432 p. (In Russ.)
9. Popov EG, Seliavko VV. Influence of radioecological factors on the indices of androgen-dependent regulation of the organism in irradiated parents and their offspring. *Ekol Vestn*. 2009;(3-4):59-68. (In Russ.)
10. Panin LE. Transport forms of steroid hormones in the blood, their relationship with the development of some physiological and pathological processes. *Biul SO RAMN*. 2012;32(1):31-7. (In Russ.)
11. Filchenkov GN, Popoff EH, Naumov AD. The low dose gamma ionising radiation impact upon cooperativity of androgen-specific proteins. *J Environ Radioact*. 2014 Jan;127:182-90. doi: 10.1016/j.jenvrad.2013.02.002
12. Mel'nik SN. Effect of bimethyl on the specific binding of estradiol in rat cardiomyocytes under conditions of ionizing radiation and stress. *Problemy Zdorov'ia Ekologii*. 2010;(2):103-6. (In Russ.)

Submitted 29.09.2020

Accepted 11.12.2020

Сведения об авторах:

Наумов А.Д. – д.б.н., доцент, профессор кафедры радиологии и биофизики, Витебская ордена «Знак Почета» государственная академия ветеринарной медицины.

Information about authors:

Navumau A.D. – Doctor of Biological Sciences, professor of the Chair of Radiology & Biophysics, Vitebsk State Awarded the «Badge of Honour» Order Veterinary Medicine Academy.

Адрес для корреспонденции: Республика Беларусь, 210036, г. Витебск, пр. Независимости, 14. E-mail: adnaumov@tut.by – Наумов Александр Дмитриевич.

Correspondence address: Republic of Belarus, 210036, Vitebsk, 14 Nezavisimosty ave. E-mail: adnaumov@tut.by – Aliaksandr D. Navumau.